

THESIS

MUNICH

1966

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNGEN EINES
NEUARTIGEN ANABOLIKUMS AUF DIE
RIBONUCLEINSÄURE UND DESOXYRIBONUCLEINSÄURE
IM KANINCHENHERZEN

Manfred Kudernatsch

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. W. SEITZ

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNGEN EINES
NEUARTIGEN ANABOLIKUMS AUF DIE
RIBONUCLEINSÄURE UND DESOXYRIBONUCLEINSÄURE
IM KANINCHENHERZEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Manfred Kudernatsch
aus Hermanitz

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. H. NOWY
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 7. 1966

MEINEN ELTERN
IN DANKBARKEIT GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	7
II. EIGENE VERSUCHE	12
III. METHODIK	13
A. Sektion und Präparation der Herzen	13
B. Bestimmung des Nucleinsäurephosphors, sowie der Phosphorproteide	13
1. Prinzip	13
2. Erstellung der Eichkurve	14
3. Tierversuche	15
a. Entfernung des säurelöslichen und Li- poidphosphor	15
b. Auftrennung der Phosphorfraktionen	16
c. Bestimmung des Phosphors nach Fiske und Subbarow	17
d. Berechnung	17
IV. ERGEBNISSE	19
V. DISKUSSION	41
VI. ZUSAMMENFASSUNG	44
VII. LITERATURNACHWEIS	46
VIII. LEBENS LAUF	51

I. EINLEITUNG

Wie wir wissen, sind die androgenen Hormone nicht nur für die akzesorischen Geschlechtsfunktionen des Mannes verantwortlich, sie stimulieren auch eindeutig den Proteinaufbau und das Wachstum. Durch konstitutionelle Abwandlung der männlichen Sexualhormone erreichte man eine herabgesetzte androgene Aktivität. Anabolika, die frei von jeder Sexualwirkung sind, hat man bis heute noch nicht gefunden (27). Während KRAFT und KOCHAKIAN (23) eine Trennung zwischen der anabolen und androgenen Wirkung machen, wirft I. W. R. EVERSE (12) die Frage auf, ob nicht auch die androgene Wirkung ein anaboler Effekt sei, aber dann auf spezifische Rezeptorgewebe, wie Geschlechtsorgane, Stimmbänder usw. Mit anderen Worten: Besteht ein Unterschied zwischen dem stark androgenen Testosteron, daß Testosteron leichter zu den männlichen Rezeptororganen, als zum Beispiel zu den Muskeln und, daß anabole Steroide durch ihre Struktur leichter in Muskeln, als zum Beispiel in die Samenblasen kommen? BUTENANDT konnte tatsächlich mit radioaktivem Testosteron nachweisen, daß dieser Stoff rascher in die Samenblasen aufgenommen wird, als in den Muskeln der Bauchwand. KOCHAKIAN fand zwar auch, daß der anabole Effekt nur bei bestimmten Geweben und spezieverschieden auf trete, er wies jedoch nach, wie die Reduktion des Ringes A, ohne Reduktion der Ketogruppe, zu einer wirksameren Wachstumssteigerung und zu einem Rückgang der androgenen Wirkung führt.

Bevor wir zu der Frage nach den Wirkungen der Anabolika kommen, wäre noch kurz etwas über die Dosisabhängigkeit der Wirkung zu sagen. Da die Anabolika in physiologischer Weise das Wachstum fördern, führt GRAB (16) aus, sei beim Überschreiten einer Grenzdosis kein erhöhter Effekt mehr zu erwarten. So ergab sich, nach NOWY et al. (33) am insuffizienten, hypertrophen Herzen praktisch kein Anstieg des Actomyosin nach Gabe von anabolen Substanzen, gegenüber unbehand. Tieren, da hier diese Rate bereits durch die Hypertrophie erreicht worden war. Beim Menschen beobachtete JUNKMANN (18), daß parenterale Tagesgaben von 25 mg Testosteronpropionat gut, 10 mg mittelstark wirksam waren und 5 mg nur die Hälfte der Maximalwirkung zeigten. Sicher scheint auch zu sein, daß eine ausreichende Ernährung, während der Behandlung eine Vorbedingung ist (19), wobei die Nahrungszufuhr nicht gesteigert sein soll. Die anabole Wirkung

beruht also offenbar auf einer verbesserten Utilisation der zugeführten Nahrung.

Eine Kontrolle des anabolen Effektes ergibt sich in der Stickstoffbilanz (Minderung der Stickstoffausscheidung - Zunahme des Gesamtstickstoffes), sowie der Gewichtszunahme, bei konstanter Diät. Die Gewichtszunahme läßt sich jedoch nicht allein durch den Proteinaufbau erklären, vielmehr wird sie teilweise auf die Wasserretention zurückgeführt (18). Bereits 1933 konnte KORENCHEVSKY (25, 26) einen proteinanabolen Effekt nachweisen, indem er bei Versuchstieren die verminderten Gewichte von Leber, Herz und Niere durch Hormonkonzentrate auf ihren ursprünglichen Stand zu bringen vermochte. Auch an Skelettmuskeln von kastrierten männlichen und normalen weiblichen Meerschweinchen ließ sich eine allgemeine Hypertrophie durch Testosteron und andere Androgene erreichen. SCHUMANN (40) fand an kastrierten Ratten unter dem Einfluß von Testosteronpropionat einen Wiederanstieg des Herzgewichtes und eine Zunahme des Glykogen-, sowie Phosphokreatingehaltes. Mit Hilfe von Isotopen bestätigte LABHART (30) die Verminderung der Kreatin - und die Vermehrung der Kreatininausscheidung, wobei es sich hier um eine überschießende Synthese und nicht um die Folge von Muskelabbau handeln soll. Eine selektive Zunahme des Actomyosingehaltes im Myocard von Kaninchenherzen nach Testosteronbehandlung konnten BLASIUS und KÄFER (3) elektrophoretisch feststellen. Im Gegensatz zu dieser Arbeit, fand SCOW (41) an atrophierten Skelettmuskeln zwar eine Normalisierung mehrerer untersuchter Eiweißfraktionen jedoch keinen bevorzugten Einbau von Actomyosin. Selbst am geschädigten menschlichen Herzen konnten FIEGEL (13), sowie STUHLFAUTH et al. (43), therapeutische Erfolge melden. Ebenso trat bei Durabolinbehandlung, wie STUR berichtete (7), bei Patienten mit Muskeldystrophie eine wesentliche Besserung ein.

Alle diese Arbeiten berichten von den Erfolgen und Wirkungen der Anabolikatherapie, ohne eine Aussage über den Angriffspunkt oder die Beeinflussung des Proteinstoffwechsels zu machen. KOCHAKIAN (24) nimmt eine direkte Wirkung auf gewisse Enzymsysteme an, die in dem Eiweißstoffwechsel eine Rolle spielen, wie Aminosäureoxydase, Arginase und Phosphatase. Eine ähnliche Ansicht vertritt auch KRÜSKEMPER (29). Die Proteinsynthese, sowie die Neubildung von Zellkernen und Zellen bei Anwendung von anabolen Substanzen wird von GRAB (16), durch eine Stimulation erklärt, wobei all das aufgebaut wird, was wachsende Zellen benötigen, wie Nucleinsäuren und Organproteine für Niere, Leber und Muskulatur. Unter der Wirkung von Anabolika sollen in später wachsenden Zellen zunächst energiereiche Phosphate und Glykogen eingelagert werden. Diese gespeicherte potentielle Energie soll bewerkstelligen, daß vermehrt Aminosäuren in die Zellen eindringen und dort rasch in Peptide und Proteinbindungen überführt wer-

den, sobald sie dort örtlich fixiert bleiben. Hierdurch strömen Aminosäuren in höherem Maße nach und eine Proteinsynthese wird möglich. Diese Erklärung läuft also auf eine Erhöhung der Aktivität der für die Proteinbildung nötigen Fermente hinaus.

Seitdem es aber zu zeigen gelang, nach welchen Regeln die Zelle Eiweiß aufbaut, ist man auch der Auffassung, die Primärwirkung der Hormone bestehe darin, die Nucleinsäuren zu beeinflussen und damit die Proteinsynthese bzw. die Enzymsynthese zu steuern (WACKER 44). Bekanntlich ist die im Zellkern enthaltene Desoxyribonucleinsäure, die Informationssubstanz für die Eiweißsynthese. Die DNS stellt eine Matrize dar, nach der sich die Synthese des Eiweißmoleküls immer wieder ausrichtet. Von der DNS gelangt die Information zu den Ribosomen, wo am endoplasmatischen Reticulum - außerhalb des Zellkernes - die Eiweißsynthese stattfindet (20).

Tatsächlich konnten SILAO et al. (42) nachweisen, daß die Nucleinsäuren aus Rattenextrakt nach Testosteronbehandlung aktiver sind, d.h. sie synthetisieren mehr Eiweiß. Dies wäre mit den allgemein gemachten Erfahrungen zu vergleichen, nach denen Ribosenucleotide, besonders bei rascher Bildung von Zytoplasmaweiweiß, so zum Beispiel beim Wachstum maligner Tumoren, vermehrt auftreten (8). Anhand von Färbemethoden und anschließenden Absorptionsmessungen konnte ebenfalls, wie CASPERSSON berichtet (9), an eiweißproduzierenden Drüsen in bestimmten Phasen, bzw. in den Zellen des Stratum granulosum, wo die Keratohyalinproduktion stattfindet, eine erhebliche Menge an Nucleotiden des Ribosetyps nachgewiesen werden. Es muß folglich ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Ribosenucleotiden in hoher Konzentration im Zytoplasma und der Produktion von Eiweiß bestehen.

Bei neun Wochen lang eiweißarm ernährten Ratten findet man einen Verlust an Ribonucleinsäuren. Demgegenüber bleibt der Gehalt an DNS praktisch unverändert (17). Diese Unveränderlichkeit der DNS entspricht den Erwartungen der Lehre der Biochemie der Gene, nach der sie als genetisches Material in allen Zellen eines Organismus unabhängig von der Differenzierung, zu bestimmten Geweben, in gleicher Menge vorhanden ist (BUTENANDT 5). So ermittelte BOIVEN 1948 beim Kalb in den Kernen verschiedener Organe, eine konstante Menge an DNS ($6,5 \times 10^{-6} \gamma$). In den Spermien des Stiers fand er jedoch nur die Hälfte ($3,4 \times 10^{-6} \gamma$). Diese Untersuchungen werden noch an anderen Objekten bestätigt und durch den Befund erweitert, daß bei echter Polyploidie der DNS-Gehalt der Kerne entsprechend erhöht ist (DAVIDSON 1950, SCHRADER 1951).

Bestimmt man die Nucleinsäuren quantitativ, so muß man auch das Alter der Tiere, sowie die Art des Futters berücksichtigen (11). Von CASPERSON weiß man nämlich, daß die Nucleinsäurekonzentration in

der embryonalen Leber von Hühnern erhöht ist. BEVI, MUKANDAN et al. (2) fanden bei Rattenmuskeln nach der Geburt einen rapiden Abfall von DNS. In der nächsten Phase **sinkt** die RNS langsamer ab, als die DNS, um im Alter wieder leicht **anzusteigen**. Im Alter verzeichnet auch die DNS eine langsamere Abnahme. Daraus ergibt sich eine stetig schwankende Basislinie im Verhältnis von RNS/DNS, auf die sich die oben angeführten Veränderungen der Ribosenucleinsäuren, bei veränderter Aktivität der Proteinsynthese, noch auflagern.

KARLSON (21) diskutiert ähnlich, wie BANGA (1) eine direkte Beeinflussung der Nucleinsäuren durch Hormone. Bestimmte Genorte sollen danach gehemmt oder aktiviert werden, durch deren Aktivität wiederum weitere Reaktionen in Gang gesetzt werden. KARLSON begründet seine These mit Hilfe der Untersuchungen über das Ekdysen, das ein bestimmtes Gen bei der Mücke *Chironomas tentans*, unter Ausbildung einer "Puffing Zone" aktiviert. Dabei stellt er sich vor, daß das Hormon ganz am Anfang der Kausalkette beim Gen angreift und hier die RNS Synthese in Gang setzt. Die darauf erfolgende Proteinsynthese, speziell die von Enzymen, erschließt er in Analogie zum bekannten Chemismus der Proteinbildung. Bei der Wirkung der Östrone auf das Uteruswachstum ist eine der frühesten Wirkungen, die Neubildung von Nucleinsäuren, sowie von Protein. Ob eine Aktivierung der Gene, d.h. der DNS vorausgeht, stellt KARLSON allerdings in Frage.

Auch die Wirkung des Testosteron auf die Vesiculardrüsen ist, wie BUTENANDT, GÜNTHER und TURBA gefunden haben, primär eine Proteinsynthese. Hierbei ist bemerkenswert, daß das Hormon seinen Wirkungsort bereits verlassen hat, wenn die Wirkung voll einsetzt. Es ist also nicht anzunehmen, daß das Testosteron nach Art eines Coenzym in ein proteinbildendes System eingebaut wird, sondern es muß seine Wirkung gewissermaßen durch den Anstoß eines präexistierenden Systems entfalten. Wahrscheinlich wird man auch bei den Anabolika, den Abkömmlingen der androgenen Hormone auf einen ähnlichen Wirkungsmechanismus schließen dürfen. Die soeben angeführte Hypothese wird noch durch die Arbeiten von KOBLET und RIVA (22) über Testosteronpropionat ergänzt. Sie sprechen die Vermutung aus, bei der nucleären Eiweißsynthese sei der Angriffspunkt der androgenen Hormone im Kern selbst zu suchen. Die Wirkung auf die nucleäre Eiweißsynthese komme nicht durch Aktivierung eines zytoplasmatischen Faktors zustande, dies um so mehr, als WILSON (47) nachgewiesen hat, daß androgene Hormone weder die intrazelluläre Anreicherung von Aminosäuren noch die de novo Synthese - von Aminosäuren begünstigen sollen. Ihren Versuchen entsprechend folgern KOBLET und RIVA weiter, daß die Beschleunigung der nucleären Eiweißsynthese durch das Anabolikum auf eine Veränderung der Matrize der Kernribosomen zurückzuführen sei.

Eine Verminderung der RNS - Fraktion wurde von NOWY et al. (32) nach der Behandlung von 4 - Chlortestosteronacetat an der Muskulatur des li. Ventrikels bei Hasenherzen beobachtet. Dies würde für eine hemmende Wirkung des Eiweißumsatzes durch das Anabolikum sprechen, im Gegensatz zu den oben angeführten Autoren.

Um einer Klärung der Frage nach der Wirkungsweise von Anabolika, speziell auf die Herzmuskulatur etwas näher zu kommen, haben wir mehrere Tiergruppen mit verschiedenen hohen Dosen eines neuartigen Anabolikums behandelt und dessen Einflüsse auf die Nucleinsäurezusammensetzung des Myocards untersucht. Die Versuche wurden an Kaninchen durchgeführt.

II. EIGENE VERSUCHE

Bei unseren Untersuchungen teilten wir die Versuchstiere - es waren nur Kaninchenböcke - in 4 Gruppen ein.

Gruppe I :	12	Normaltiere		
Gruppe II : a.	9	Tiere tägliche	Behandlungsdosis	30 mg Sta 307
	b. 6	"	"	30 mg Testosteron propionat
Gruppe III: a.	9	"	"	10 mg Sta 307
	b. 6	"	"	10 mg Testosteron propionat
Gruppe IV: a.	7	"	"	3 mg Sta 307
	b. 6	"	"	3 mg Testosteron propionat

Das in Kapseln abgefüllte anabole Steroid mit dem Firmenzeichen Sta 307 [1 α - 7 α Bis (acethylthio) 17 β hydroxy - 17 α Methylandrosten (4) on (3)] -im Handel genannt Embdabol ^{*)}, applizierten wir den Tieren 6 x wöchentlich, insgesamt 5 Wochen lang. Diese Substanz soll im Tierversuch eine vierfach stärkere anabole Wirkung und einen um das 8,5 fache geringeren androgenen Effekt, als das Methyltestosteron zeigen, wie durch den levator ani - und den Hodenwachstumstest nachgewiesen wurde (45). Der myotrope Effekt dieses Anabolikums soll eine Steigerung um das 4,56 fache gegenüber dem 17 α Methyltestosteron aufweisen. Dabei wurden weder eine akute noch eine subakute toxische Wirkung bei Versuchstieren bemerkt. Auch an den Parenchyomen, wie Nebenniere und Herz konnte KRAFT (28) keine histologisch nachweisbaren Schädigungen finden. In Folge der Thiosubstituierung war eine gute Resorption im Darm gewährleistet, so daß wir diese Substanz eingeben konnten.

Bei dem Füttern setzten wir den Kaninchenbock in ein Kistchen und schoben dann die Kapsel mit der anabolen Substanz, mit Hilfe einer Pinzette möglichst tief in den Rachen des Tieres. Anschließend beliesen wir die Tiere noch einige Zeit in dem Kistchen, um zu beobachten, ob die Kapsel mit der Substanz tatsächlich geschluckt worden war.

Eines besseren Vergleiches der Wirkungsspezifität wegen, injizierten wir einer Parallelgruppe von Tieren, ebensolange Zeit, in 1 cm Erdnußöl gelöstes Testosteronp. Den "Normaltieren" wurde nur Erdnußöl eingespritzt. Während der Versuchsdauer erhielten sämtliche Tiere eine einheitliche Kost, bestehend aus Hafer, Rüben und Heu. Die Versuche wurden in der Zeit vom 1. Januar bis zum 30. Juli 1964 durchgeführt.

^{*)} Merck AG, Darmstadt. Von der Firma Merck wurden uns die Substanzen in Kapseln abgefüllt bzw. in Ampullenform zur Verfügung gestellt.

III. METHODIK

A. Sektion und Präparation der Herzen (34).

Nach der fünfwöchigen Behandlung wurden die Tiere gewogen und anschließend in Urethannarkose, bei Trachealbeatmung seziert. Vor der Entnahme des Herzens aus dem Brustkorb wurde immer ein EKG gemacht und manchmal der Carotisdruck gemessen.

Zur Entnahme des Herzens mußte das vorher freigelegte Sternum mit einer Schere, vom Proc. xiphoideus aus, gespalten werden. Nach der Eröffnung des Herzbeutels wurden die großen Gefäßstämme mit einer Pinzette gefaßt und distal davon durchtrennt. Das so gewonnene Herz wurde sofort in eine auf 34°C erwärmte Tyrodelösung getaucht, die 0,5% Glucose enthielt und durch Einblasen von Luft mit O₂ angereichert war. Um das in den Coronarien befindliche Blut auszutreiben schloß man dann das extracorporal weiterschlagende Herz, an der Aorta, mit einer Glaskanüle an ein Druckgefäß an. Nach kurzer Zeit wurden die oberflächlich liegenden Herzkranzgefäße farblos. Gleichzeitig wurde das Herz grob von dem pericardialen Fettgewebe und den Gefäßstümpfen befreit. Dieses Vorgehen wurde hauptsächlich der parallel laufenden Elektrophoreseversuche wegen, durchgeführt.

Da alle Lebensvorgänge unterbrochen werden mußten und keine Autolyse eintreten durfte, wurde anschließend das Herz abgetrocknet, auf einen mit Filterpapier bedeckten Seesand gelegt und mit einem, mit vielen Stahlnadeln versehenen Stempel, der in flüssigem Stickstoff (Siedepunkt -195,8° C) vorgekühlt worden war, durchbohrt. Das so an den Stempel fixierte Herz wurde in den flüssigen Stickstoff getaucht und erstarrte vollkommen. Nach der Lösung des Herzens von dem Stempel, wurde es in Filterpapier gewickelt und bis zur Weiterverarbeitung auf Trockeneis konserviert.

Vor der Bestimmung der Nucleinsäuren mußte das pericardiale Bindegewebe abpräpariert werden. Dabei durfte das Herz nur soweit auftauen, bis es von dem eventuell im Inneren befindlichen Eis befreit war und sich gerade schneiden ließ, so daß es in die einzelnen Herzabschnitte zerlegt werden konnte. Diese li. Ventrikel mit Septum, re. Ventrikel und Vorhöfe wurden dann gewogen (siehe Herzgewichte). Zu den Versuchen wurden jeweils 2 x 600 mg des li. Ventrikel verwendet.

B. Bestimmung des Nucleinsäurephosphors, sowie der Phosphorproteide. 1) Prinzip der Bestimmung von Nucleinsäuren (DNS, RNS) nach G. SCHMIDT und S-J. THANNHAUSER. Gering modifiziert (37)

Das Verfahren nach Thannhauser bedient sich, zur quantitativen Bestimmung der Nucleinsäuren des Gehaltes an Phosphor. Da in dem Ho-

mogenat neben den Nucleinsäuren und Phosphorproteiden noch andere phosphorhaltige Substanzen enthalten sind (säurelöslicher Phosphor und Lipoidphosphor : Lecithine, Kepheline usw.) müssen diese in einem ersten Arbeitsgang abgetrennt werden. Dies geschieht durch Säurefällung und Waschen mit lipoidlösenden Substanzen. Danach müssen die Phosphorfractionen des Niederschlages (DNS, RNS und Phosphorproteide) abgetrennt werden. Der Fraktionierung von DNS und RNS kommt dabei die selektive Destruktion der RNS bei schwach alkalischer Behandlung zu Gute. Die RNS hydrolysiert quantitativ in säurelösliche Nucleotide. Die DNS hingegen bleibt säureunlöslich. Wird also nach der alkalischen Behandlung stark angesäuert, so befindet sich der DNS P im Niederschlag. Im Überstand erscheinen der RNS Phosphor als organisches Phosphat, sowie die quantitativ freigesetzten Phosphorgruppen der Phosphorproteide, als anorganisches Phosphat.

2. Erstellung der Eichkurve zur Umrechnung der colorimetrisch bestimmten Extinktionswerte, auf den Phosphorgehalt.

Zuerst mußte aus KH_2PO_4 eine Stammlösung hergestellt werden, die 0,01 mg P/ml enthält. Von dieser werden fortlaufend 1-5 ccm in 50 ccm Reagenzgläser pipettiert, anschließend mit einem Farbreaktionsgemisch bestehend aus:

5 n H_2SO_4	2,5 ml		
2,5 % Ammoniummolybdat	2,5 ml		
Reduktionsmittel	1,0 ml (Nat. bisulfit.	30,0 g	
	" sulfit. anhydr.	6,0 g	
	Amino 2 Naphtol 4 Sul-		
	fons.	0,5 g	
	Aqua bidest. ad	250,0 ccm	

versetzt und mit Aqua bidest auf 25 ml aufgefüllt. Während des folgenden 10 min Stehens wird des öfteren geschüttelt und dann mit dem Photometer bei dem Filter 578 ($\lambda = 730 \text{ m}\mu$) die Extinktion der Farbtintensität gemessen. Als Vergleichslösung gebrauchen wir das oben angegebene Farbreaktionsgemisch, welches ebenfalls auf 25 ml mit Aqua bidest. aufgefüllt werden muß.

Als Extinktionswerte ergeben sich bei :

Glas I	1 ccm Lösung	= 0,01 mg P	Extinktion	: 0,037
Glas II	2 ccm "	= 0,02 mg P	"	: 0,07
Glas III	3 ccm "	= 0,03 mg P	"	: 0,104
Glas IV	4 ccm "	= 0,04 mg P	"	: 0,140
Glas V	5 ccm "	= 0,05 mg P	"	: 0,172

Die Extinktionswerte werden als Ordinate gegen die bekannten Phosphorkonzentrationen als Abszisse auf Millimeterpapier eingetragen. Dabei erhält man eine Funktion die streng linear ist.

3. Tierversuche

a. Entfernung des säurelöslichen und Lipoidphosphor aus dem Homogenat.

Reagentien:

physiologische Kochsalzlösung	eiskalt
20 % Trichloressigsäure	"
2 % Trichloressigsäure	"
Aqua bidest	"
Bloor'sche Lösung (96% Spiritus vergällt mit Binzin + Äther = 3 : 1	
Äther p.a.	
Chloroform Methanol (1 : 1) p.a.	
1 n NaOH	

Die mit der Analysenwaage bestimmten 2 x 600 mg Herzmuskelgewebe werden in Homogenisierkölben gebracht und in 8 ml physiologischer NaCl suspendiert. Zur Zerkleinerung des Gewebes verwenden wir einen Homogenisator Marke Eduard Bühler. Während des 1 min Homogenisierens wird ständig mit Eiswasser gekühlt. Das gewonnene Homogenat wird anschließend quantitativ in 50 ml Zentrifugengläser übergeführt, ebenso die 7,5 ml Kochsalzlösung, die zum Nachspülen des Homogenisators dienen. Um eine Säurekonzentration von etwa 7 - 8 % zu erreichen, tropfen wir 9,4 ccm einer eisgekühlten 20 % Trichloressigsäure hinzu. Etwa 30 min bleibt dann die Suspension in einem Eisbad stehen, wobei ständig umgerührt wird.

In Abwandlung der Methode nach Schmidt und Thannhauser zentrifugieren wir zur Abtrennung des Niederschlages die Suspension etwa 10 min bei 2000 g. Der Überstand wird mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Zur Weiterverarbeitung des Niederschlages folgen ein zweimaliges Waschen mit ungefähr 45 ccm 2% TES (eisgekühlt), sowie mit zwei Mal derselben Menge Aqua bidest, bis die Reaktion gegen Lackmus neutral wird. Dabei wird der Niederschlag jeweils kräftig in den Lösungen aufgewirbelt und dann 10 min zentrifugiert. Bei dem folgenden Waschen mit Bloorscher Lösung und Äther verkürzen wir die Zentrifugierzeiten auf 5 min. Der Rückstand bleibt stehen, bis er getrocknet ist, sodann kann er leicht in die Schliffkolben übergeführt werden. Etwaige Reste werden mit 40 ccm Bloorscher Lösung nachgespült. Nach einem 5 min langen Kochen der Suspension an dem Rückflußkühler wird die überstehende Flüssigkeit in die ursprünglichen Zentrifugengläser dekantiert und 7 min zentrifugiert. Das Zentrifugat wird abgehoben. Die ausgefallene Substanz überträgt man

mit Chloroform-Methanol in den Schliffkolben und kocht erneut 30 min an dem Rückflußkühler. Dann wird der Inhalt des Schliffkolbens wieder in die Zentrifugengläser zurückgekippt und 10 min zentrifugiert. Der Niederschlag wird anschließend nochmals mit Äther gewaschen, zentrifugiert und gelangt dann in den Exsiccator.

Sobald das Gewebe ausgetrocknet ist, wird es mit 6 ccm 1 n NaOH versetzt und dann 18 h, bis zur vollständigen Lösung, in mit einem Gummistopfen verschlossenem Reagenzglas, im Wärmeschrank, bei 37°C inkubiert.

b. Auftrennung der Phosphorfractionen.

Reagentien:

- 6 n HCl
- 5 % TES
- 2 % TES
- konz. Ammoniak
- Phenolphthalein
- 2,5 % Calciumchloridlösung
- 0,5 % Magnesiumcarbonatlösung (Suspension)
- 2 % Ammoniaklösung mit CaOH gesättigt

Nach 18 h Inkubation wird die Lösung geschüttelt in 15 ccm Zentrifugengläser quantitativ übertragen und dann 10 min zentrifugiert.

α) Von dem Überstand pipettiert man 2 x 1 ml in Veraschungskolben zur Bestimmung des Ges. P--nach FISKE und SUBBAROW (14, 15)-FRAKTION I.

Zur Abtrennung der DNS von den anderen Phosphorfractionen werden 3 ccm des Überstandes mit 0,6 ml 6 n HCl, sowie 6 ccm 5 % TES versetzt. Man wartet 30 min unter gelegentlichem Aufrühren des Gemisches ab und zentrifugiert dann 10 min, um den Niederschlag der DNS von den anderen im Überstand befindlichen Phosphorfractionen (RNS + Phosphorproteinphosphor) abzutrennen.

β) Zur Bestimmung des RNS- und Phosphorproteinphosphors entnimmt man 2 ccm des Überstandes, FRAKTION II.

γ) Der die DNS enthaltende Niederschlag des Hydrolysates, wird 2 x 10 min mit 2 % TES gewaschen und dann mit Aqua bidest. in feuerfeste Veraschungskolben zur Phosphorbestimmung übergeführt. FRAKTION III.

δ) Den anorganischen Phosphor bestimmen wir nach der Methode von DELORY G.E. (10) in 4 ml des Überstandes (siehe oben). Zu diesem Zweck neutralisiert man die 4 ml Überstand in 15 ml Zentrifugengläsern mit konzentrierter Ammoniak gegen Phenolphthalein und fügt noch 0,2 ccm im Überschuß hinzu. Zu dieser Lösung kommen weiterhin 0,1 ccm Calciumhydroxydlösung, sowie 0,1 ml Magnesiumcarbonatsuspension. Die Suspension bleibt unter öfterem Umrühren 30 min

stehen und wird anschließend 10 min zentrifugiert. Der Niederschlag wird nochmals mit Ammoniaklösung, welche mit CaOH gesättigt ist, gewaschen und der Überstand abzentrifugiert. Den zurückbleibenden Niederschlag löst man in 5 ml. 5 % TES auf und überträgt 4 ml davon, zur Phosphorbestimmung in feuerfeste Veraschungskolben. FRAKTION IV.

c. Bestimmung des Phosphors nach FISKE und SUBBAROW. Gering modifiziert (14, 15)

Reagentien:

- 1 n HCl
- Phenolphthalein
- 5 n H_2SO_4 p. a.
- 10 % H_2O_2 p. a.
- 2,5 % Ammoniummolybdatlösung
- Aqua bidest.

Reduktionsmittel (siehe oben)

Die oben angeführten Fraktionen werden, wie folgt weiterverarbeitet. Die Fraktion des alkalischen Hydrolysates neutralisiert man gegen Phenolphthalein mit 1 n HCl. Weiterhin behandelt man alle Fraktionen in gleicher Weise. Zuerst werden die Flüssigkeiten durch Verdampfen auf einem Veraschungsapparat auf ungefähr 1 ml konzentriert. Nach dem Abkühlen fügt man 2,5 ml 5 n H_2SO_4 hinzu und verascht bis weiße Dämpfe entstehen. Nach dem Abkühlen werden immer ungefähr 0,5 bis 1 ml H_2O_2 hinzugegeben und erneut erhitzt, bis die Dämpfe erscheinen. Sobald Schlieren im Kolbenhals hochsteigen und keine weitere Schwärzung auftritt, ist die Veraschung beendet.

Nach dem Abkühlen der Gläser kommen 2,5 ml Ammoniummolybdatlösung hinzu. Mit Aqua bidest. wird ad 24 ccm aufgefüllt, und 1 ml Reduktionsmittel hinzupipettiert. Durch Schütteln der Kolben versucht man die Lösung gut zu durchmischen. Nach 10 min wird dann der Extinktionswert gegen eine Vergleichslösung, wie oben bei der Einrichtung der Eichkurve beschrieben, abgelesen.

d. Berechnung

Mit Hilfe des am Photometer abgelesenen Extinktionswertes ist es uns möglich in der Eichkurve, den in die Kölbchen einpipettierten Gehalt an Phosphor abzulesen. Dieser entspricht einer bestimmten, je nach der Höhe des eingewogenen Gewebegewichtes sich ändernden Menge an Frischgewebe. Um eine bessere Vergleichsbasis zu gewinnen, rechnen wir von dem immer neu zu bestimmenden Gewicht auf 100 g um.

Nach dieser Umrechnung werden die einzelnen Phosphorfraktionen, wie folgt bestimmt:

Gesamtposphor: aus FRAKTION I

Der DNS P berechnet sich aus $\text{Ges. P} - \text{FRAKTION II}$

der RNS P aus $\text{FRAKTION II} - \text{FRAKTION IV}$

der Phosphorproteidphosphor aus FRAKTION IV

der aus FRAKTION III gewonnene DNS Phosphor dient zur Kontrolle des oben errechneten DNS Wertes.

IV. ERGEBNISSE

Unsere Versuchsergebnisse stellten wir für die einzelnen Tiergruppen (siehe oben) in jeweils 2 Tabellen zusammen. Deren erstere veranschaulicht die Tiergewichte zu Beginn und am Ende der Behandlung, sowie die rel. Herz-, Nebennieren- und Hodengewichte mit den Ergebnissen der Fehlerrechnungen. Die Werte der Phosphorfraktionen faßten wir, gleichfalls mit den Fehlerrechnungen (MURALT v. 31) in einer zweiten Tabelle zusammen. Es folgen 4 graphische Abbildungen über das Verhältnis von RNS/DNS, sowie Hoden-, Nebennieren- und Herzgewichte, bezogen auf die Körpergewichte. Am Schluß befindet sich eine Übersichtstabelle.

Gruppe I. Normaltiere.

Da bei den Normaltieren die Tierrasse wegen hoher Krankheitsanfälligkeit gewechselt werden mußte, wurde deren erstere gesondert mit den Buchstaben DR = Rasse "Deutscher Riese" bezeichnet. Entsprechend den Wertunterschieden, die besonders bei dem RNS P und DNS P evident waren, bestimmten wir diese Mittelwerte in Tabelle Ia₂, sowie die Angaben der Fehlerrechnung getrennt für die Normaltiere insgesamt und für die neue Rasse allein. Als Vergleichswerte fanden bei den Tier- und Herzgewichten, die entsprechenden Daten aus den Arbeiten von NOWY (35) und REY (36) Verwendung. In Tabelle Ia₂ wurden zum Vergleich Werte aus den Arbeiten von NOWY, sowie SCHÜTTE (39) eingetragen.

Gruppe II. Behandlungsdosis 30 mg.

Bei den mit 30 mg Embdabol behandelten Tieren können wir an den Nucleinsäurephosphorwerten, gegenüber den Normaltieren keinen statistisch gesicherten Unterschied feststellen. Die rel. Herz-, Nebennieren und Hodengewichtswerte bewegen sich ebenfalls in der Grenze der Normaltiere, auch nach Angabe der Werte von NOWY und SCHÜTTE (36, 39).

Bezüglich der Tiere von Gruppe IIb (30 mg Testosteronp.) wäre zu sagen, daß sich bei diesen ein statistisch gesicherter Unterschied bei der DNS ergibt und zwar wurde hier ein niedrigerer DNS Phosphorgehalt gefunden. Dies muß natürlich nicht besagen, der Wert der DNS sei in Folge der Behandlung vermindert worden. Um dies zu klären, wäre eine Bestimmung der Trockengewichte notwendig. Auch hier zeigen die relativen Hoden-, Nebennieren- und Herzgewichte, statistisch gesehen, keine Abweichung von den Normaltieren. Die Tiergewichte verzeichnen keine statistisch gesicherte Gewichtszunahme, gegenüber den Werten zu Beginn der Behandlung.

Gruppe III. Behandlungsdosis 10 mg.

Die, mit einer Dosis von 10 mg Embdabol gefütterten Tiere wiesen bei der Beurteilung der Nucleinsäurephosphorwerte ebenfalls keinen stat. gesicherten Unterschied gegenüber den Normaltieren auf. Vergleicht man die Werte der rel. Herz- und Nebennierengewichte, so liegen sie in der Grenze der Normaltiere. Die Hodengewichte haben leicht abgenommen. Die Tiergewichte sind, stat. signifikant, gestiegen. Bei dieser, sowie bei den folgenden Gruppen wurden für den RNSP und DNSP in der stat. Auswertung der Fehlerrechnung, jeweils die Werte, bezogen auf die Normaltiere, mit und ohne DR angegeben. Die mit 10 mg Testosteroninjizierten Tiere zeigen stat. gesichert einen niedrigeren DNS P Wert. Auch der Gesamtposphorwert liegt wahrscheinlich unter dem der Normaltiere. Die rel. Hodengewichte sind, stat. errechnet, wahrscheinlich leichter. Die rel. Herz- und Nebennierengewichte wiesen keine Veränderung gegenüber den, der Normaltiere auf.

Gruppe IV. Behandlungsdosis 3 mg.

Bei den mit 3 mg Embdabol behandelten Hasen, ergab sich eine wahrscheinliche Erhöhung der Hodengewichte. Die Mittelwerte der rel. Herz und Nebennierengewichte bewegen sich in Höhe der Normaltierwerte. Bei den Tiergewichten kann man eine stat. erfaßbare Gewichtszunahme verzeichnen.

Bei den Nucleinsäurephosphorwerten fanden wir eine stat. gesicherte Erhöhung des RNS P, gegenüber den Normaltieren, ohne DR. Zieht man die Werte der DR zu den Normaltieren noch hinzu, so ergibt sich für die Erhöhung nur eine stat. Wahrscheinlichkeit (siehe Tab. IVa₂). Bei den Werten des anorg. P scheint eine wahrscheinliche Abnahme vorzuliegen.

Wertet man die Ergebnisse der Tiergruppe IVb (3 mg Testosteronp.) aus, so kann man bei den Phosphorwerten, gegenüber den Normaltieren keinen stat. Unterschied nachweisen. Bei den rel. Nebennieren- und Herzgewichten liegt, im Vergleich zu den Normaltieren, keine Veränderung vor. Die rel. Hodengewichte sind statistisch gesichert erniedrigt.

Bei der Berechnung der Tiergewichte, nach der Behandlung ergibt sich, stat. gesehen, ein wahrscheinlicher Anstieg, gemessen am Ausgangswert.

Erklärung der Fehlerrechnung:

Der scheinbare Fehler λ errechnet sich aus der Abweichung der einzelnen Zählung 1 von dem Näherungswert N : $\lambda_n = 1 - N$;

$$[\lambda] = \lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \dots + \lambda_n$$

$$[\lambda\lambda] = \lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2 + \dots + \lambda_n^2$$

Dispersion: $m = \pm \sqrt{\frac{[\lambda\lambda] - \frac{[\lambda]^2}{n}}{n-1}}$

Der mittlere Fehler des Mittelwertes aus den n Messungen ist:

$$M = \pm \frac{m}{\sqrt{n}}$$

Zur Bestimmung des Unterschiedes zwischen zwei Meßreihen errechnet man zuerst die Differenz D zwischen den ausgeglichenen Mittelwerten der beiden Reihen. Der mittlere Fehler $\varepsilon(D)$ dieser Differenz wird, wie folgt berechnet:

$$\varepsilon(D) = \pm \sqrt{M_1^2 + M_2^2}$$

Zur Beurteilung des Unterschiedes zwischen beiden Meßreihen wird der Quotient $\frac{D}{\varepsilon(D)}$ gebildet. Es gilt

$$\frac{D}{\varepsilon(D)} < 2 : \text{es besteht kein Unterschied,}$$

$$\frac{D}{\varepsilon(D)} \approx 2, \text{ aber } < 3 \text{ ein Unterschied ist wahrscheinlich,}$$

$$\frac{D}{\varepsilon(D)} > 3, \text{ ein Unterschied ist sicher vorhanden.}$$

Normaltiere

(Tabelle I a₁)

Tier Nr.	Tiergew. vor Behandl.	Tiergew. nach Behandl.	Herzgew. g Tiergew. kg	Hodengew. g Tiergew. kg	NN-Gew. g Tiergew. kg
548DR	4750	4870	2,11	1,81	0,184
549DR	4270	4490	2,10	1,15	0,181
557DR	5200	5750	2,43	1,57	0,100
558DR	4530	4670	2,07	1,94	0,123
559DR	3850	4400	2,25	1,54	0,088
562	3310	3660	2,25	2,23	0,181
566	4000	4420	1,76	1,69	0,117
567	3780	3780	2,188	1,45	0,119
595	3090	3810	2,11	1,69	0,117
610	3220	3580	2,39	1,16	0,144
611	2710	4150	2,08	0,91	0,101
612	3470	3800	2,47	1,14	0,082

num. Mittelwert	3827	4281	2,23	1,52	0,120
Nowy et al.		3512	2,41		
Rey		3385	2,38		

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion:	$\pm 0,748$	$\pm 0,627$	$\pm 0,284$	$\pm 0,484$	$\pm 0,036$
Mittl. Fehlerd. Mittelwertes	$\pm 0,216$	$\pm 0,181$	$\pm 0,08$	$\pm 0,13$	$\pm 0,01$

$\frac{D}{\sum (D)}$
 1,6

Normaltiere
(Tabelle I a₂)

Tier Nr.	Ges. P	anorg. P	DNS P	RNS P	<u>RNS P</u> DNS P	Ges. NS P
548DR	38,07	2,60	8,02	27,45	3,42	35,47
549DR	36,73	1,84	7,76	27,12	3,45	34,88
557DR	39,37	2,84	8,85	27,67	3,10	36,53
558DR	40,49	3,31	9,23	27,95	3,03	37,18
559DR	28,80	0,96	6,79	21,04	3,09	27,84
562	34,30	1,37	7,57	25,36	3,50	32,93
566	33,16	1,29	7,51	24,35	3,24	31,86
567	32,68	2,30	7,58	22,79	3,00	30,22
595	36,64	2,29	7,72	26,62	3,44	34,35
610	36,45	2,39	8,15	25,91	3,17	34,06
611	34,06	1,79	7,64	24,63	3,22	32,27
612	31,81	1,21	7,39	23,25	3,14	30,80

num. Mittelwert	35,21	2,01	7,85	25,34	3,23	33,18
Nowy et al.	35,70	2,00	8,64	25,06	2,90	33,70
Schütte	39,96	3,10	8,46	28,37	3,36	36,94
Werte ohne DR			7,65	24,70		

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion	$\pm 3,366$	$\pm 0,724$	$\pm 0,537$	$\pm 2,188$	DNS best.	$\pm 0,826$
Mittl. Fehler d. Mittelwertes	$\pm 0,971$	$\pm 0,208$	$\pm 0,155$	$\pm 0,600$	"	$\pm 0,246$
Dispersion x			0,620	1,19	"	0,392
Mittl. Fehler d. Mittelwertes x			0,253	0,485	"	0,160

x Werte ohne DR.

Behandlungsdosis 30 mg Sta 307

(Tabelle II a₁)

Tier Nr.	Tiergew. vor Behandl.	Tiergew. nach Behandl.	<u>Herzgew. g</u> <u>Tiergew. kg</u>	<u>Hodengew. g</u> <u>Tiergew. kg</u>	<u>NN. Gew. g</u> <u>Tiergew. kg</u>
540DR	4360	4560	2,302	2,369	0,133
544DR	4450	5430	2,631	1,326	0,159
556DR	4525	4810	2,561	2,317	0,195
569	3230	3775	2,536	1,654	0,133
570	3230	3900	2,560	1,520	0,106
571	3020	3890	2,445	1,398	0,089
574	3250	4000	2,515	1,805	0,089
604	2750	3080	1,960	1,347	0,115
605	2610	2854	2,398	1,271	0,131

num. Mittel- wert	3491	4033	2,434	1,667	0,127

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion:	$\pm 0,745$	$\pm 0,808$	$\pm 0,247$	$\pm 0,416$	$\pm 0,032$
Mittl. Fehler d. Mittelwertes	$\pm 0,248$	$\pm 0,269$	$\pm 0,082$	$\pm 0,138$	$\pm 0,010$
$\frac{D}{\Sigma (D)}$		1,5	1,7	0,82	0,65

Behandlungsdosis 30 mg Sta 307

{ Tabelle II a₂ }

Tier NR.	Ges P	anorg. P	DNS P	RNS P	RNS/DNS	Ges. NS
540DR	35,40	1,99	7,24	26,12	3,61	33,35
544DR	32,47	1,99	7,23	23,25	3,21	30,48
556DR	36,97	2,80	7,37	26,80	3,64	34,17
569	33,28	1,30	7,47	24,50	3,29	31,97
570	31,51	1,88	6,93	22,70	3,27	29,63
571	33,44	1,92	7,09	24,43	3,44	31,52
574	34,57	2,72	8,14	23,93	2,93	31,88
604	34,55	2,38	7,98	24,19	3,03	32,17
605	35,97	1,47	7,98	26,52	3,33	34,50

num. Mittelwert	34,24	2,16	7,49	24,71	3,30	32,18
-----------------	-------	------	------	-------	------	-------

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion:	$\pm 1,735$	$\pm 0,507$	$\pm 0,436$	$\pm 1,449$	DNS best.	$\pm 0,448$
-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-----------	-------------

Mittl. Fehler d. Mittelwertes	$\pm 0,578$	$\pm 0,169$	$\pm 0,145$	$\pm 0,438$	"	$\pm 0,149$
-------------------------------	-------------	-------------	-------------	-------------	---	-------------

$\frac{D}{\sum (D)} =$	0,85	0,60	1,95	0,81	"	1,0
------------------------	------	------	------	------	---	-----

Behandlungsdosis 30 mg Testosteron propionat.

(Tabelle II b₁)

Tier Nr.	Tiergew. vor Behandl. g	Tiergew. nach Behandl. g	Herzgew. g ----- Tiergew. kg	Hodengew. g ----- Tiergew. kg	NN. Gew. g ----- Tiergew. kg
542DR	4600	4730	2,23	1,180	0,118
563	3310	3890	2,85	0,883	0,087
564	3510	4000	1,83	1,223	0,110
565	3670	4365	2,71	0,730	0,154
572	2965	3480	2,55	1,355	0,128
573	2915	3380	2,41	1,588	0,119

num. Mittel- wert	3495	3974	2,43	1,159	0,102
----------------------	------	------	------	-------	-------

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion: $\pm 0,618$ $\pm 0,514$ $\pm 0,366$ $\pm 0,692$ $\pm 0,021$

Mittl. Fehler d. Mittelwertes $\pm 0,25$ $\pm 0,21$ $\pm 0,15$ $\pm 0,28$ $\pm 0,08$

$\frac{D}{\chi^2(D)}$ 1,46 1,14 1,19 0,22

Behandlungsdosis 80 mg Testosteron propionat.

(Tabelle II b₂)

Tier Nr.	Ges. P	anorg. P	DNS P	RNS P	RNS/DNS	Ges. NS
542 DR	38,39	1,85	7,45	29,08	4,01	36,54
563	31,31	0,81	7,33	23,16	3,18	30,49
564	30,63	1,37	6,41	22,84	3,56	29,24
565	30,85	1,47	6,52	22,85	3,50	29,37
572	28,93	1,57	5,97	21,34	3,57	27,36
573	33,41	2,21	7,29	23,91	3,28	30,70

num. Mittelwert	32,25	1,54	6,82	23,86	3,51	30,61
-----------------	-------	------	------	-------	------	-------

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion: $\pm 3,332$ $\pm 0,471$ $\pm 0,609$ $\pm 2,688$ DNS best. $\pm 0,506$

Mittl. Fehler d. Mittelwertes $\pm 1,360$ $\pm 0,192$ $\pm 0,248$ $\pm 1,097$ " $\pm 0,226$

$\frac{D}{\bar{x}(D)} = 1,77$ 1,66 3,76 1,18 " 3,5

Behandlungsdosis 10 mg Sta 307

(Tabelle III a₁)

Tier Nr.	Tiergew. vor Behandl. g	Tiergew. nach Behandl. g	Herzgew. g Tiergew. kg	Hodengew. g Tiergew. kg	NN-Gew. g Tiergew. kg
575	3370	4390	2,100	1,379	0,088
576	3380	4180	2,057	1,028	0,105
577	3670	4200	2,190	1,726	0,064
581	3510	3940	2,190	1,191	0,114
582	3725	4410	2,431	1,593	0,137
583	2880	3350	2,432	0,785	0,095
589	2830	3400	2,485	0,944	0,102
590	3000	3300	2,808	1,098	0,121
591	3060	3710	2,213	1,029	0,179

num. Mittelwert	3269	3875	2,322	1,208	0,111

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion:	$\pm 0,336$	$\pm 0,497$	$\pm 0,237$	$\pm 0,339$	$\pm 0,031$
Mittel. Fehler des Mittelwertes	$\pm 0,112$	$\pm 0,165$	$\pm 0,079$	$\pm 0,113$	$\pm 0,010$

$$\frac{D}{\xi(D)} = \begin{array}{ccccc} & 3,04 & 0,77 & 0,63 & 1,84 \end{array}$$

Behandlungsdosis 10 mg Sta 307

(Tabelle III a₂)

Tier Nr.	Ges. P	anorg. P	DNS P	RNS P	RNS/DNS	Ges. NS
575	34,85	1,99	7,46	25,40	3,40	32,86
576	34,26	1,79	7,35	25,12	3,41	32,47
577	33,13	2,29	7,33	23,41	3,19	30,74
581	28,80	1,99	6,47	20,34	3,14	26,26
582	32,91	1,37	6,89	24,69	3,57	31,54
583	31,61	1,40	6,85	23,63	3,45	31,21
589	36,07	2,41	7,51	26,15	3,48	33,66
590	38,00	1,57	7,78	28,65	3,68	36,43
591	39,30	2,20	8,50	28,60	3,36	37,10

 num. Mit- 34,32 1,89 7,34 25,11 3,40 33,58
 telwert

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion: $\pm 2,936$ $\pm 0,382$ $\pm 0,326$ $\pm 2,595$ DNS P best. $\pm 0,637$

Mittl. Fehler d. Mit- $\pm 0,975$ $\pm 0,127$ $\pm 0,108$ $\pm 0,865$ " $\pm 0,212$
 telwertes

$\frac{D}{\epsilon(D)} = 0,64$ 0,045 3,07 0,21 " 1,26

Auswertung ohne DR 1,1 0,41 0,067

Behandlungsdosis 10 mg Testosteron propionat

(Tabelle III b₁)

Tier Nr.	Tiergew. vor Behandl. g	Tiergew. nach Behandl. g	Herzgew. g Tiergew. kg	Hodengew. g Tiergew. kg	NN-Gew. Tiergew. kg
578	3370	3780	2,015	1,652	0,082
579	3400	3910	2,668	0,655	0,147
580	3240	3770	2,520	0,894	0,127
584	2870	3260	2,360	1,136	0,089
585	4430	4720	2,577	1,115	0,154
586	3155	3670	2,213	0,784	0,111

num. Mittelwerte	3410	3851	2,392	1,039	0,116

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion:	$\pm 0,534$	$\pm 0,314$	$\pm 0,289$	$\pm 0,363$	$\pm 0,03$
Mittl. Fehler d. Mittelwertes	$\pm 0,21$	$\pm 0,12$	$\pm 0,11$	$\pm 0,14$	$\pm 0,01$
$\frac{D}{\chi(D)} =$		1,82	1,15	2,54	0,28

Behandlungsdosis 10 mg Testosteron propionat

(Tabelle III b₂)

Tier Nr.	Ges. P	anorg. P	DNS P	RNS P	RNS/DNS	Ges. NS
578	33,21	2,21	6,79	24,21	3,56	31,00
579	29,77	1,98	6,60	21,56	3,26	28,16
580	33,25	2,81	6,55	23,88	3,64	30,43
584	31,29	1,40	6,57	23,32	3,54	29,89
585	35,28	1,26	7,05	27,02	3,84	34,02
586	36,43	2,04	7,23	27,26	3,77	34,39

num. Mittelwert	33,20	1,95	6,79	24,54	3,60	31,31

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion: $\pm 2,456$	$\pm 0,573$	$\pm 0,280$	$\pm 2,211$	DNS best. $\pm 0,323$
Mittl. Fehler d. Mittelwertes $\pm 1,002$	$\pm 0,234$	$\pm 0,114$	$\pm 0,914$	" $\pm 0,144$
$\frac{D}{\sum (D)} = 1,44$	0,019	6,58	0,75	" 2,3
Auswertung ohne DR		3,1	0,81	" 2,3

Behandlungsdosis 3 mg Sta 307

(Tabelle IV a₁)

Tier Nr.	Tiergew. vor Behandl.	Tiergew. nach Behandl.	Herzgew. g Tiergew. kg	Hodengew. g Tiergew. kg	NN-Gew. g Tiergew. kg
587	3000	3620	1,778	1,345	0,093
588	2820	3250	2,550	1,492	0,141
592	3150	3810	2,270	0,887	0,163
593	2940	3610	2,048	-----	0,134
598	3620	3940	2,260	1,070	0,109
601	3190	4014	2,766	1,389	0,091
602	3110	3620	2,268	1,092	0,072

num. Mittel- wert	3104	3709	2,277	1,211	0,125
----------------------	------	------	-------	-------	-------

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion:	$\pm 0,289$	$\pm 0,255$	$\pm 0,320$	$\pm 0,224$	$\pm 0,031$
Mittl. Fehler d. Mittelwertes	$\pm 0,109$	$\pm 0,096$	$\pm 0,12$	$\pm 0,10$	$\pm 0,01$
$\frac{D}{\xi(D)} =$		4,17	0,29	1,92	0,35

Behandlungsdosis 3 mg Sta 307

(Tabelle IV a₂)

Tier Nr.	Ges. P	anorg. P	DNS P	RNS P	RNS/DNS P	Ges. P
587	37,41	1,57	7,88	27,87	3,51	35,84
588	38,58	1,81	8,27	28,50	3,45	36,77
592	35,11	1,38	7,21	26,52	3,63	33,73
593	35,06	1,57	7,79	25,69	3,29	33,48
598	34,72	1,23	7,02	27,70	3,77	33,49
601	33,32	0,82	7,28	25,22	3,60	32,50
602	36,03	1,39	7,27	27,36	3,75	34,63

num. Mittelwert	35,74	1,39	7,52	26,98	3,57	34,34

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion: $\pm 1,745$	$\pm 0,224$	$\pm 0,442$	$\pm 1,204$	DNS best. $\pm 0,520$
Mittl. Fehler d. Mittelwertes $\pm 0,662$	$\pm 0,084$	$\pm 0,147$	$\pm 0,493$	" $\pm 0,232$
$\frac{D}{\Sigma (D)} = 0,45$	2,77	1,54	2,1	" 0,029
Auswertung ohne DR		0,044	3,30	" 0,49

Behandlungsdosis 3 mg Testosteron propionat

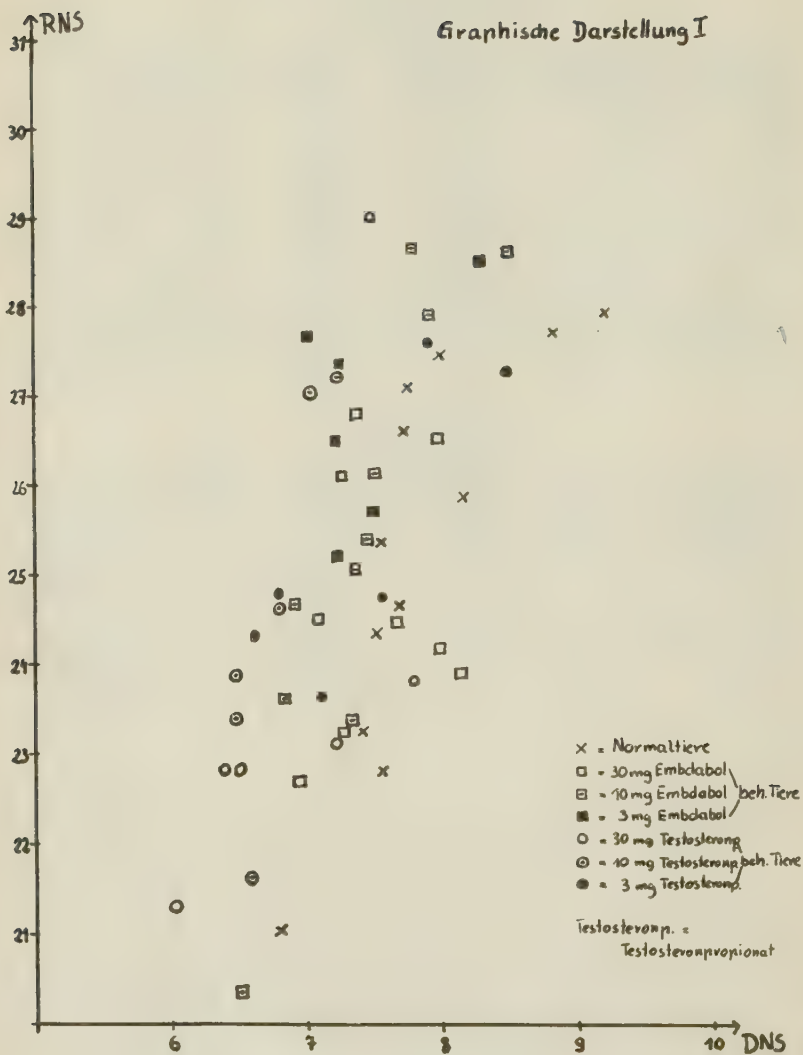
{ Tabelle IV b₁ }

Tier Nr.	Tiergew. vor Behandl. g	Tiergew. nach Behandl. g	Herzgew. g Tiergew. kg	Hodengew. g Tiergew. kg	NN= Gew. Tiergew. kg
596	2590	3200	2,706	0,284	0,087
597	2800	3260	1,985	0,926	0,146
599	2580	3000	2,286	1,391	0,094
600	2700	3400	2,161	0,858	0,100
608	3090	4110	2,443	0,532	0,089
609	3970	4000	2,791	0,665	0,109

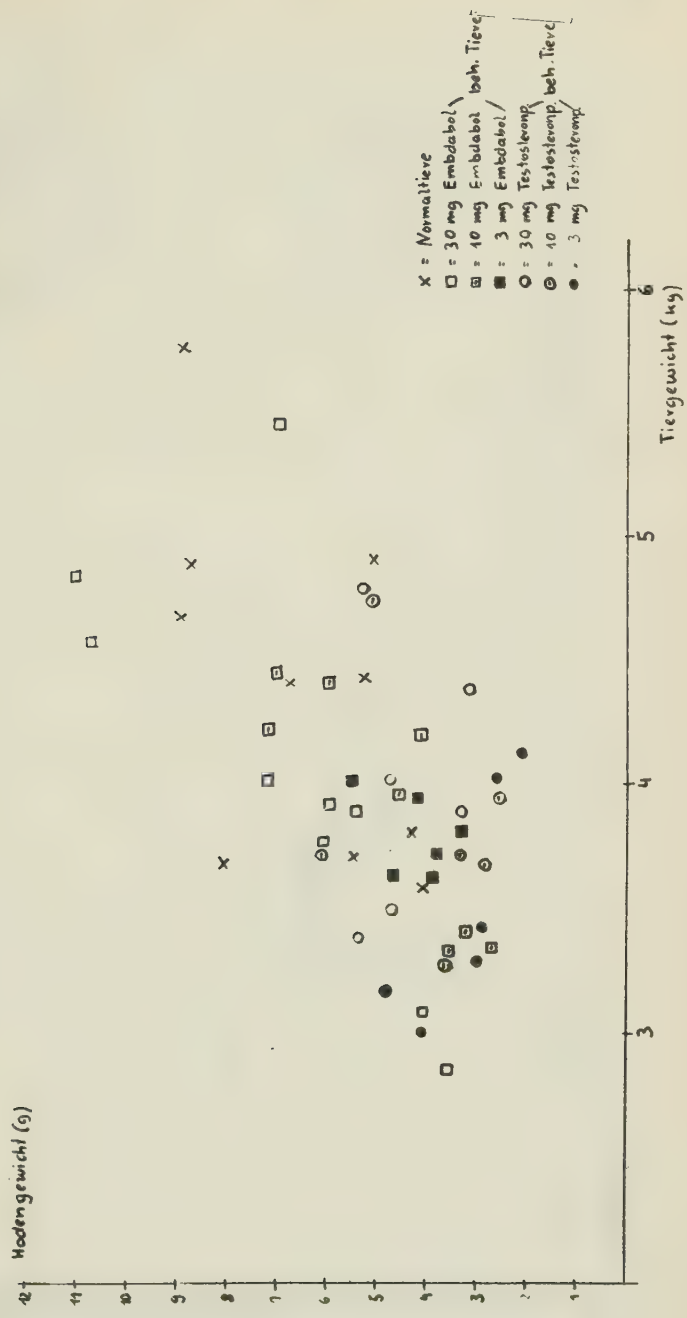
num. Mittelwert	2955	3490	2,395	0,776	0,106
-----------------	------	------	-------	-------	-------

Werte der Fehlerrechnung

Dispersion:	$\pm 0,531$	$\pm 0,449$	$\pm 0,314$	$\pm 0,389$	$\pm 0,023$
Mittl. Fehler d. Mittelwertes	$\pm 0,021$	$\pm 0,18$	$\pm 0,12$	$\pm 0,15$	$\pm 0,009$
$\frac{D}{\sum(D)} =$		1,93	1,11	3,80	1,34



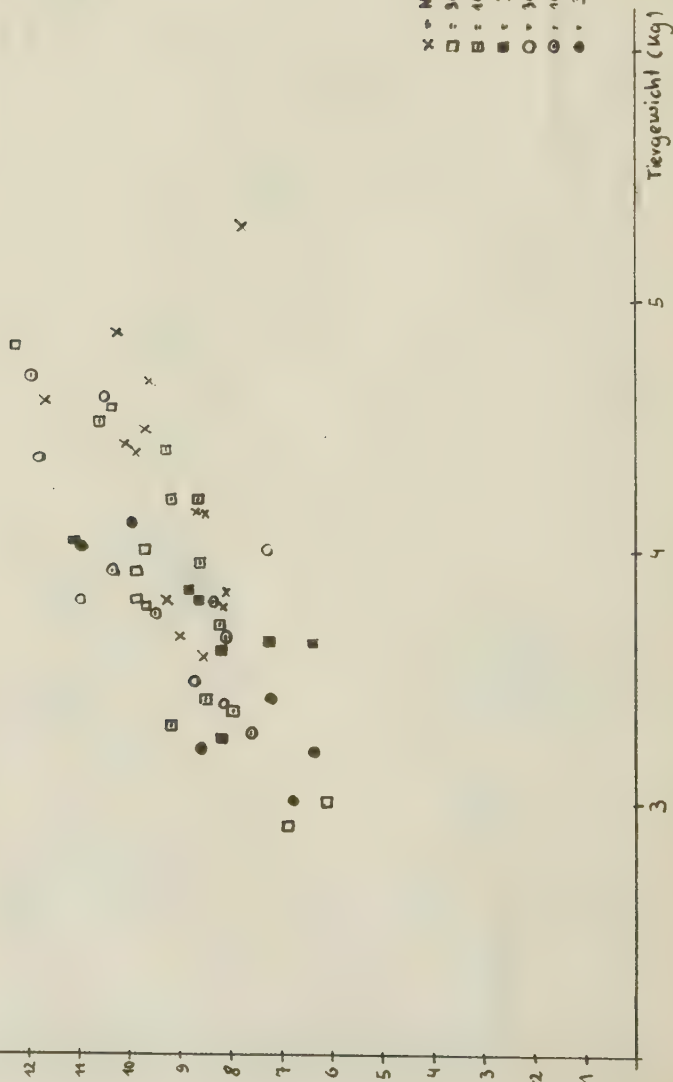
Graphische Darstellung II



Herzgewicht (g)

□ x

Graphische Darstellung III



Graphische Darstellung IV

Nebennierengewichte (g)

12
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1

Tiergewichte (kg)

6
5
4
3

X = Normaltiere

□ = 30 mg Embdadel

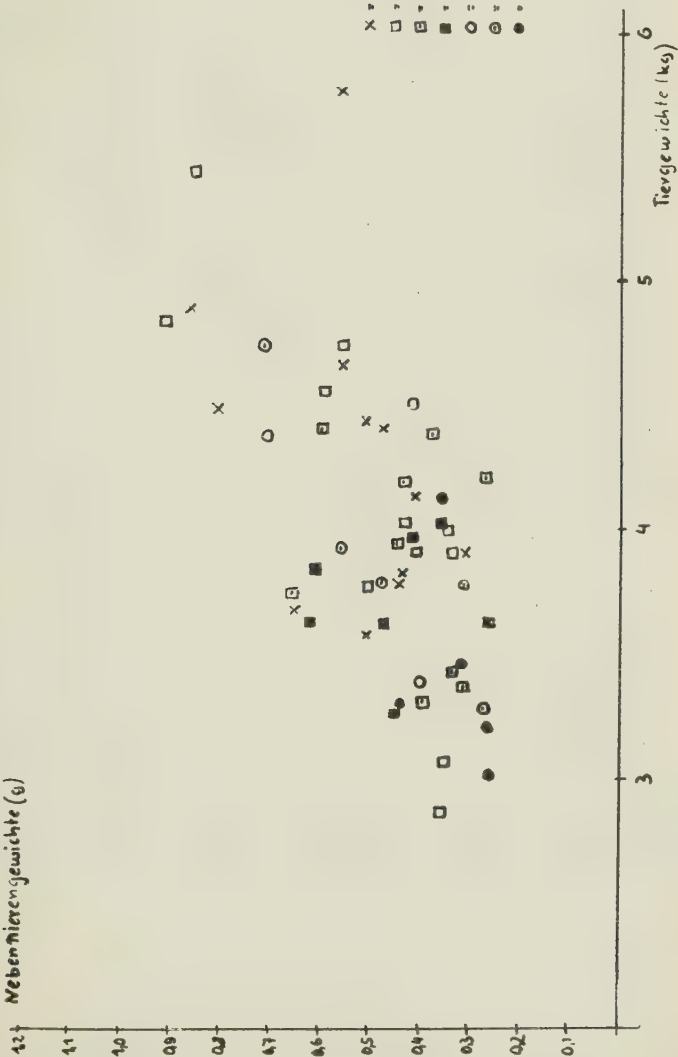
▢ = 10 mg Embdadel beh. Tiere

■ = 3 mg Embdadel

○ = 30 mg Testosteron

⊙ = 10 mg Testosteron beh. Tiere

● = 3 mg Testosteron



In der folgenden Übersicht werden prozentuale Vergleiche zwischen den Normaltieren und den behandelten Tieren gezogen, wobei die Werte der Normaltiere gleich 100 % gesetzt wurden. Die in Klammern gesetzten Vergleichszahlen geben die Werte bezogen auf die Normaltiere ohne "Deutsche Riesen" an. Am Schluß befindet sich eine Zusammenstellung der Verhältniszahlen von RNS/DNS.

Vergleich der RNS P und DNS P Werte.

Normaltiere	25,34 (24,60)	= 100 %	7,85 (7,65)	= 100 %
Embdabol	24,71	= 97,5 %	7,49	= 95,4 %
30 mg				
Embdabol	25,11	= 99,4 %	7,34	= 94,5 %
10 mg		(101,6 %)		(95,9 %)
Embdabol	26,98	= 106,4 %	7,52	= 95,7 %
3 mg		(109,2)		(98,5 %)
Testosteronprop.	23,86	= 94,1 %	6,82	= 87,8 %
30 mg				
Testosteronprop.	24,54	= 96,8 %	6,79	= 86,4 %
10 mg		(99,3 %)		(88,7 %)
Testosteronprop.	25,40	= 100,2 %	7,41	= 94,3 %
3 mg		(103,6)		(96,8 %)

Vergleich der RNS/DNS Werte

Embdabol	30 mg	3,30	Testosteronprop.	30 mg	3,51
	10 mg	3,40	"	10 mg	3,60
	3 mg	3,57	"	3 mg	3,40

V. DISKUSSION

Stellt man die Nucleinsäurephosphorwerte der Normaltiere, den oben angegebenen von NOWY und SCHÜTTE (33, 39) gegenüber, so ergibt sich mit den Angaben von NOWY fast eine Übereinstimmung, während die von SCHÜTTE etwas höher liegen. Das mag darauf zurückzuführen sein, daß SCHÜTTE mit zum Teil kräftigeren Tieren gearbeitet hat. Zu einem ähnlich unterschiedlichen Ergebnis kommen auch wir, wenn wir die Werte der "Deutschen Riesen" mit den der anderen Tiere vergleichen.

Bei den mit der anabolen Substanz gefütterten Kaninchen ergibt sich nur bei den Tieren der Gruppe IVa ein Anstieg des RNS P, sowie eine leichte Verminderung des anorg. P, im Vergleich zu den Normaltieren (Tabelle Ia₂, IVa₂). Dies mag vielleicht mit einer optimalen Wirksamkeit des Anabolikums gerade bei dieser Dosis in Zusammenhang stehen. Die Gewichtszunahme der Tiere ist hier stat. am höchsten gesichert. Nach der Theorie von CASPERSSON (9) und BRACHET (4), soll eine positive Korrelation zwischen der Eiweißsynthese und den RNS bestehen, was nichts anderes zu besagen hat als, daß bei einer Förderung der de novo Synthese von Eiweiß, eine sichere Zunahme der RNS zu erwarten ist. Für das Verständnis des Proteinstoffwechsels ist auch das Verhältnis von RNS/DNS von großer Wichtigkeit. Denn nach EULER und HAHN (11) soll das Verhältnis RNS/DNS besonders hoch in schnell wachsenden Organen sein. Hier finden wir einen RNS/DNS Mittelwert von 3,57 (Übersichtstabelle). Dieser liegt über dem der Normaltiere und würde für einen gesteigerten Proteinstoffwechsel sprechen. Bei der Beurteilung der rel. Herzgewichte (Tabelle IVa₁, Ia₁), ergibt sich jedoch kein gesicherter Anhaltspunkt für eine Zunahme des Herzgewichtes. Allerdings müßte ein Gewichtszuwachs, im rel. Herzgewicht, bei entsprechender Zunahme der Skelettmuskulatur nicht zum Ausdruck kommen. Für eine Bestätigung unserer Annahme spricht aber die Auswertung der Herzgewichte in Prozenten, in der sich ebenfalls keine Gewichtszunahme im Vergleich zu den Normaltieren ergibt (Übersichtstabelle).

Bei den mit 10 mg und 30 mg Embdabol behandelten Tieren kann man weder in den Nucleinsäurefraktionen, noch bei der Auswertung der Herzgewichte einen Unterschied zu den Normaltieren errechnen. Da die DNS Werte auch nicht stat. erfaßbar gesenkt sind, ist zusammen mit den oben angeführten Ergebnissen der Gewichtvergleiche eine Wirkung im Sinne einer Hypertrophie auszuschließen. Die Bestimmung des Faserdurchmessers könnte eine endgültige Klärung bringen. Während an den Nucleinsäurephosphorwerten der Herzen der Tiergruppe IVb (3 mg Testosteronpropionat) keine Unterschiede gegenüber den Vergleichstieren eruierbar sind, fallen bei den mit 10 mg und 30 mg Testosteronpropionat behandelten Tieren die stat. gesicherten niedrigeren DNS P-Werte (6,79, 6,72) auf. Dieser im Durchschnitt

14 % bzw. 11 % betragende Abfall der DNS könnte, nach NOWY und FRINGS (35) eine Hypertrophie erwarten lassen. Bei Rey (36) betrug der DNS P-Wert am hypertrophischen Herzmuskel 6,81. Das gering erhöhte RNS/DNS Verhältnis (3,60, 3,51) spräche auch dafür. Bei den Herzgewichtsvergleichen vermißt man allerdings die entsprechenden Gewichtszunahme. Nur bei den mit 10 mg Testosteronpropionat behandelten Tieren kann man eine Gewichtssteigerung von 9 % finden, die sich aber stat. nicht sichern läßt (Tabelle IIb₁). Dieses Absinken der DNS läßt auch an eine Toxizität denken. SCHENETTEN (38) berichtete am 2. Symposion für Endocrinologie, er habe bei zu hohen Dosierungen anaboler Substanzen eine Schädigung des Herzmuskels festgestellt. Histologisch sollen diese Bilder einem Herzinfarkt gleichen. Der Hypothese entsprechend, nach der Testosteron an einem präexistierenden System angreifen soll (siehe Einleitung), wäre doch, bei Überdosierung, eine Schädigung dessen im Bereich des Möglichen. Um dies genau zu überprüfen, müßten ebenfalls histologische Untersuchungen durchgeführt werden. Eine genaue Erklärung der DNS Verminderung erscheint, beim heutigen Stand unserer Kenntnis über den Testosteronwirkungsmechanismus noch nicht möglich.

Als Nebenbeobachtung wurden noch die Gewichte der Nebennieren, sowie der Hoden festgehalten. Die Hodengewichte sind bei den Tieren der Gruppe IVa und IIb stat. wahrscheinlich, sowie bei denen der Gruppe IVb stat. gesichert erniedrigt. Die Nebennierengewichte blieben bei allen behandelten Tiergruppen unverändert. Diese Ergebnisse entsprechen den Erwartungen. Bei den Hoden kam es durch die Testosterongaben zu einer Inaktivitätsatrophie. Daß bei den Nebennieren kein anaboler Effekt sichtbar wurde, obwohl nach den Angaben von GRAB (16) und KRACHT eine Atrophie der Rinde durch anabole Steroide verhindert werden konnte, mag auf die in der Einleitung hingewiesene physiologische Wirkung zurückgeführt werden.

Die kritische Phase der von uns angewandten Versuchsmethode liegt in der Bildung komplexer Phosphormolybdänsäure und ihrer Reduktion zu einer intensiv blau gefärbten Verbindung, dem sog. Phosphormolybdänblau. Verwendet man als Reduktionsmittel Aminonaphtolsulfonsäure, so werden pro Phosphatmolekül sofort nur zwei Molybdatmoleküle reduziert, dagegen 9 bei ZinnIIchlorid. Man stellt sich vor, daß die Reduktion der ersten zwei Molybdatmoleküle durch Aminonaphtolsulfonsäure schnell erfolgt, die der 7 anderen jedoch sehr langsam eintritt. Sie geht erst dann genügend schnell vor sich, wenn sich die Temperatur erhöht oder das Reduktionsmittel genügend stark ist. Deshalb ist auch bei Zimmertemperatur die entwickelte Farbe nicht konstant, sondern vertieft sich allmählich (6).

Dies entfällt für die Methoden, bei denen der spez. Extinktionskoeffizient 800 - 900 ist, da hier die Färbung für lange Zeit konstant ist.

Aus diesem Grund wäre vielleicht dem Zinn IIchlorid der Vorzug vor der Aminonaphtholsulfonsäure zu geben, zumal diese nur eine begrenzte Haltbarkeit von 2 bis 3 Wochen, bei 30°C hat.

Als Störeffekte kommen noch die Kieselsäure und H_2O_2 in Frage. Erstere beeinträchtigt die Blaufärbung, da sie ebenfalls mit der Molybdänsäure reagiert. Die Silikate kann man aber ausschalten, wenn man alkalische Lösungen in Polyesterflaschen aufbewahrt. Ebenso sollte das Reduktionsmittel in Polyesterflaschen abgefüllt werden. Da sich auch in reinem Wasserstoffperoxyd Spuren von Phosphor befinden sollen, besteht ebenfalls hierin eine geringe Gefahr, daß die Phosphorwerte verfälscht werden. Allerdings dürften diese, oben angeführten Störeffekte der Versuchsmethode kaum ins Gewicht fallen und keine Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse darstellen.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde nach der Methode von SCHMIDT und THANNHAUSER (37) der Gehalt an DNS -P, PNS P und Phosphorproteiden an Herzen von Kaninchenböcke bestimmt, die mit einer Dosis von 30 mg, 10 mg und 3 mg Embdabol, sowie Testosteronpropionat behandelt worden waren. Außerdem wurden die rel. Herz-, Hoden- und Nebennierengewichte ausgewertet. Zum Vergleich dienten 12 unbehandelte Normaltiere.

Der DNS P Gehalt war bei allen mit Embdabol gefütterten Tiergruppen unverändert. Nur bei den mit 10 mg und 30 mg Testosteronpropionat injizierten Tieren statistisch gesichert erniedrigt.

Bei den mit 3 mg anaboler Substanz behandelten Kaninchen wurde eine stat. gesicherte Erhöhung des RNS P, sowie eine stat. wahrscheinliche Verminderung der Phosphorproteide gefunden. Bei allen anderen Gruppen trat bei diesen beiden Werten keine Änderung gegenüber den Normaltieren ein. Die Mittelwerte der rel. Herz-, sowie Nebennierengewichte weisen, sowohl bei den mit Embdabol, als auch mit Testosteronpropionat behandelten Tieren, im Vergleich zu den unbehandelten Kaninchenböcken, keine Unterschiede auf. Die Hodengewichte liegen, mit Ausnahme, der mit 30 mg Embdabol bzw. Testosteronpropionat behandelten Tieren, statistisch nachweisbar, unter denen der Normaltiere.

Kaninchen, die 10 mg bzw. 3 mg anaboler Substanz erhalten hatten, zeigten eine deutliche Gewichtszunahme.

Herrn Prof. Dr. H. NOWY bin ich zu großem Dank für die Überlassung des Themas, sowie für seine ständige Hilfe bei der Durchführung der Arbeiten, verpflichtet.

Herrn Dr. med. H. D. FRINGS sei ebenfalls gedankt für sein immer waches Interesse und seine wertvollen Anregungen zu meiner Versuchsarbeit.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. W. SEITZ, daß ich in seiner Klinik die notwendigen Versuche durchführen durfte.

VII. LITERATURNACHWEIS

1. BANGA I., KOKAS E. Acta physiologica, Budapest 7, 401-407, (1959)
Action of purin nucleotides on the nucleic acid content of the heart during exercise
2. BEVI D. MUKANDAN et al. Exp. Cell. Research 32, 242 (1962)
Die Wirkung des Alters auf die Veränderung von DNS und RNS und Gesamtnucleotide von Leber, Gehirn und Muskulatur von Ratten
3. BLASIUS R. KÄFER K. Klin. Wschr. 34 11/12 324-326 (1957)
u. SEITZ W. Untersuchungen über die Wirkung von Testosteron auf die kontraktile Strukturproteine des Herzens
4. BRACHET I. Ribonucleinsäuren und Proteinsynthese in Graumann W. und Neumann K. Handbuch d. Histochemie III/2 G. Fischer Verl. Stuttgart 1959
5. BUTENANDT A. Naturwissenschaften 40, 91 (1953)
Biochemie der Gene und Genwirkungen
6. McCANE D.J. zitiert in Hoppe-Seyler/Thierfelder
u. A. WEECK III/1 S 459 Springer Verl. Bln. Gött. Hdbg. 1953
7. CHIARI B. u. OPPOLZER Klin. Wschr. 72, 64, (1960)
Durabolin-Behandlung bei infantiler spinaler Muskelatrophie
8. CASPERSSON T.O. Naturwissenschaften 29, 29 (1941)
Cytoplasmatische Nucleotide in Tumorzellen
9. CASPERSSON T.O. Naturwissenschaften 29, 33 (1941)
Studien über den Eiweißumsatz in der Zelle
10. DELORY G.E. The Bioch. J. 32, 1161 (1938)
A note on the determination of phosphate in presence of interfering substances
11. EULER H.V. u. HAHN L. Arch. Bioch. 17, 285 (1947)
Concentration of ribonucleic acid and desoxyribonucleic acid in animal tissues

12. EVERSE I.W.R.
P.A.O KEEP Das Hormon 15
Testosteron, Anabolika und Erythropoese
13. FIEGEL G. Med. Klin. 57, 519 - 23 (1962)
Beeinflussung des Myocardstoffwechsels durch anabole Substanzen, ihre Verwertung in der Rehabilitationsbehandlung chronischer Herzmuskel-schäden
14. FISKE CH., SUBBA-
ROW Y. J. of Biol. Chem. 66, 375 (1925)
The colorimetric determination of phosphorus
15. FISKE CH., SUBBA-
ROW Y. J. of Biol. Chem. 81, 629 (1929)
Phosphocreatine
16. GRAB W. Münchn. Med. Wschr. 104, 47, 2322 (1962)
Pharmakologie der Anabolika
17. H.D.CREMER, FÜHR I.
in
HOPPE-SEYLER THIER-
FELDER Path. chem. Analyse Band V S 553
Springer Verl. Bln., Gött., Hdbg. (1953)
18. JUNKMANN K. 2. Symposion der Deutsch. Ges. f. Endocrinologie
Springer Verl. Bln., Gött., Hdbg. (1959)
Stoffwechselwirkungen der Steroid-hormone
19. JUNKMANN K.
SUCHOVSKY G. Arzneimittelforschung 12, 214-18, (1962)
Untersuchung anabol wirksamer Steroide
20. KARLSON P. Kurzes Lehrbuch der Biochemie S. 90 u. ff.
Thieme Verl. Stuttgart (1961)
21. KARLSON P. Dtsch. Med. Wschr. 86, 668 (1961)
Biochemische Wirkungsweise der Hormone
22. KOBLET H. u. RIVA G. Schweiz. Med. Wschr. 51, 1811 (1963)
Beschleunigung der Aminosäureinkorporation in Zellkerneiweiße durch Androgene

23. KOCHAKIAN C.D. *Klin. Wschr.* 39, 17, 181-87 (1961)
Die anabole und androgene Aktivität
von Androgenen
24. KOCHAKIAN C.D. *Schweiz. Med. Wschr.* 81, 985, (1951)
Wirkung von Androgenen auf den
Stoffwechsel
25. KORENCHEVSKY V. *J. of Path.* 33, 607 (1930)
The influence of cryptorchidism and
of castration on body weight, fat de-
position the sexual and endocrine organs
of male rats
26. KORENCHEVSKY V. *Biochem. J.* 27, 557 (1933)
Changes produced by testicular hor-
mone in normal and castrated rats.
27. KRAFT H.G. *Arzneimittelforschung* 14, 328 (1964)
Anabole and androgene Wirksamkeit
von thiosubstituierten Steroiden der
Androstan Reihe
28. KRAFT H.G.
KIESER H. *Arzneimittelforschung* 14, 330 (1964)
Experimentelle Untersuchungen mit
1 α - 7 α bis (acethyl-thio) 17 β hydro-
xy- 17 α -Methylandrosten (4)-on (3)
29. KRÜSKEMPER H.L. *Der Internist* 3 (323-332), (1962)
Grundlagen und Indikationen in der The-
rapie mit eiweißanabol wirksamen
Steroiden
30. LABHARD A. u. HEDIN-
GER Chr. *Klinik der inneren Sekretion* S 430,
Springer Verl.
Bln., Gött., Hdbg. (1957)
Wirkung des Testosteron
31. v.MURALT A. *Einführung in die prakt. Physiologie*
S. 243, Springer Verl. Bln. (1944)
32. NOWY H. FRINGS H.D. *Arzneimittelforschung* 13, 571 (1963)
Effekte von Anabolika auf den Herz-
muskel
II Mitteilung: Nucleinsäurezusammen-
setzung des Kaninchenmyocards nach
Behandlung mit 4-Chlortestosteron-
acetat

41. SCOW R.O. HAGAN S.N. Americ. J. of Physiol. 180, 31 (1955)
Effect of testosteronepropionate on
myosin, collagen and other protein
fractions in striated muscle of go-
nadectemised guinea pigs
42. SILAO W. WILLIAM H.B. Proc. Nat. Acad. Sci. 47, 1956
(1962)
An effect of testosterone on amino-
acid incorporation by ribonucleopro-
tein peptides
43. STUHLFAUTH K. Med. Klinik 35, 1551 (1959)
SEITZ W. Zur Frage der Therapie mit Sexual-
hormonen bei Herzleiden, spez.
beim Herzinfarkt
44. WACKER (Frankfurt) Referat des 2. Anabolikakolloquiums
Berlin.
45. WELLER O. Med. Welt 14, 782 (1964)
Klin. Untersuchungen über die Wir-
kung eines neuartigen anabolen Ste-
roids
46. WEIL-MALHERDE In Hoppe-Seyler/Thierfelder Path.
chem. Analyse
Band III/I, S 459, Springer Verl.
Bln., Gött., Hdbg. (1953)
47. WILSON I.P. Protein Metabolism. An international
Symposion, Leyden, B. Gross S. 26,
Springer Verl.
Bln. Gött., Hdbg. (1962)
Regulation of protein synthesis by
androgens and oestrogens

VIII. LEBENSLAUF

Am 16.2.1941 wurde ich als Sohn des Textilfabrikanten, Josef Kundernatsch und seiner Ehefrau Berthilla, geb. Bartmann in Hermannitz/Elbe geboren.

Nach dem Besuch von 4 Jahren Volksschule trat ich in das hum. Gymnasium zu St. Stephan in Augsburg ein. Während der vierten Klasse besuchte ich das altsprachliche Gymnasium St. Georg in Bocholt/Westf. In der Obertertia kam ich dann in das hum. Gymnasium Scheyern, wo ich 1960 die Reifeprüfung ablegte.

Seit dem WS 1960/61 studierte ich an der med. Fakultät der Universität München. Im Wintersemester 1962/63 konnte ich ebenda die med. Vorprüfung ablegen. Am 21.6.1966 beendete ich das Medizinstudium mit der ärztlichen Prüfung.

